

Process for preparing amide compounds

Patent number:	CN1218834	Also published as:
Publication date:	1999-06-09	 US6043061 (A)
Inventor:	KATSUO ISHII (JP); KOZO MURAO (JP)	 JP11123098 (A)
Applicant:	mitsubishi rayon co (JP)	 FR2770840 (A)
Classification:		 RU2232193 (C)
- international:	C12P13/02; C07C231/06	 AU757319 (B2)
- european:	C12P13/02	
Application number:	CN19980124587 19981023	
Priority number(s):	JP19970308077 19971023	

Abstract not available for CN1218834

Abstract of corresponding document: **US6043061**

A process for producing an amide compound is described, wherein from a nitrile compound, the corresponding amide compound is produced by the action of nitrile hydratase, characterized in that the hydrocyanic acid concentration in a composition containing the nitrile compound is reduced by a chemical process, and thereafter nitrile hydratase acts on the nitrile compound. According to the invention, the decrease of the activity of the enzyme nitrile hydratase can be effectively suppressed so that an amide compound can be effectively produced from a nitrile compound.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁶

C12P 13/02

C07C231/06

[12]发明专利申请公开说明书

[21]申请号 98124587.0

[43]公开日 1999年6月9日

[11]公开号 CN 1218834A

[22]申请日 98.10.23 [21]申请号 98124587.0

[30]优先权

[32]97.10.23 [33]JP [31]308077/97

[71]申请人 三菱人造丝株式会社

地址 日本东京都

[72]发明人 石井胜男 村尾耕三

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 杨丽琴

权利要求书1页 说明书7页 附图页数0页

[54]发明名称 一种制备酰胺化合物的方法

[57]摘要

本发明描述了一种制备酰胺化合物的方法,其中通过腈水合酶的作用由腈化合物制备相应的酰胺化合物,其特征在于通过一化学方法降低包含在含有腈化合物的组分中氢氰酸的浓度,然后将腈水合酶作用于腈化合物中。相对于本发明,能够有效地抑制腈水合酶活性的降低,因此可以从腈化合物中有效地制备出酰胺化合物。

ISSN 1 0 0 8 - 4 2 7 4

2010.10.25

权利要求书

1. 一种通过腈水合酶的作用由腈化合物制备酰胺化合物的方法，其中包括通过一化学方法降低包含在含有腈化合物的组分中氢氰酸的浓度，然后将腈水合酶作用于所述的腈化合物中。
5
2. 一种根据权利要求 1 制备酰胺化合物的方法，其中在含有腈化合物的组分中氢氰酸的浓度降低至 3ppm 或更低。
3. 一种根据权利要求 2 制备酰胺化合物的方法，其中氢氰酸的浓度降低至 1ppm 或更低。
10
4. 一种根据权利要求 3 制备酰胺化合物的方法，其中氢氰酸的浓度降低至 0.5ppm 或更低。
5. 一种根据权利要求 1 制备酰胺化合物的方法，其中腈化合物为丙烯腈。
15
6. 一种根据权利要求 1 制备酰胺化合物的方法，其中的化学方法为，在碱性条件下，将氢氰酸和不饱和的腈化合物转变为饱和的二腈化合物。
7. 一种根据权利要求 6 制备酰胺化合物的方法，其中不饱和的腈化合物为丙烯腈。

说 明 书

一种制备酰胺化合物的方法

5 本发明涉及一种通过由微生物衍生出的腈水合酶的作用从腈化合物制备酰胺化合物的方法。

酰胺化合物作为一种工业上重要的物质应用于很多领域。例如，丙烯酰胺已用作为废水处理的絮凝剂，纸张强度的增强剂以及石油的回收剂等，异丁烯酰胺用于涂料及粘合剂等。

10 通常，工业上通过使用还原态的铜作为催化剂水合相应的腈化合物来制备酰胺化合物。然而目前已提出一种使用微生物酶取代铜催化剂的方法，这种方法现在已部分实施。

15 在使用酶的方法中，反应条件比较温和，基本没有副产物。所以这种方法由于非常简单从而可以实施。因此人们认为使用酶的方法作为工业制备的方法来说是有效的。至今已发现许多微生物具有水解腈化合物形成酰胺化合物的能力。

20 这样的微生物例如可以由以下的菌属组成，如芽孢杆菌属，无芽孢杆菌属，细球菌属及短杆菌属(JP-B-62-21519, 相应于 US4001081) (这里使用的“JP-B”指的是“已审查的日本公开专利”); 棒状杆菌属及奴卡氏菌属(JP-B-56-17918, 相应于 US4248968); 假单孢菌属(JP-B-59-37951, 相应于 US4637982); 红球菌属及微杆菌属(JP-B-4-4873, 相应于 US5179014); 红球菌种 *rhodochrous* (JP-B-6-55148, 相应于 US5334519); 以及红球菌株(JP-B-7-40948, 相应于 US5200331)。

25 然而，为了提高酶催化活性并且抑制反应过程中酶催化活性的降低(减活)，通常进行许多如下的研究：一种在较低温度即冰点至于 15°C 下进行反应的方法 (JP-B-56-38118, 相应于 US4248968)，一种通过多个进料口连续加入低浓度反应物的方法 (JP-B-57-1234, 相应于 US4248968)，一种用有机溶剂处理微生物及其处理的产物的方法 (JP-A-5-308980) (这里使用的“JP-A”指“未审查的公开的日本专利申请”)，一种在高级不饱和脂肪酸存在下进行反应的方法 (JP-A-7-265090)，一种通过与例如戊二醛等交联进行处理微生物的方法 (JP-A-7-265091 和 8-154691) 等。

30 在上述的环境下，本发明人进行了许多关于相应于酶催的方法改进生产酰胺

化合物的研究。结果发现引起了传统方法无法解决的在反应过程中伴随时间的减活化作用。很自然的是，减活化作用越大，反应需要越多的酶。相应地解决这个问题将非常重要，特别是在工业规模生产中。

为了解决上述问题，本发明人进行了广泛的调查和研究。结果发现包含在含有腈化合物的组分的微量氢氰酸能加快腈水合酶的减活化作用。还进一步发现通过使用含有降低量的氢氰酸这样的组分，降低了酶的减活化作用从而能够有效地从腈化合物制备酰胺化合物，也就是说使用较少量的酶就能够制备出较多量的酰胺化合物，这样即实现了本发明。

本发明提供了一种制备酰胺化合物的方法，其中通过腈水合酶的作用由腈化合物制备相应的酰胺化合物，特征在于通过化学方法降低在含有腈化合物的组分中氢氰酸的浓度，此后再将腈水合酶作用于腈化合物中。

一种腈化合物，例如丙烯腈工业上是通过将丙烯进行氨氧化作用制备的。反应完全后，通过蒸馏提纯将氢氰酸及其它副产物一起除去。然而用这种方法无法除去的氢氰酸通常在商品中的含量为 0.1—5ppm。通过随后分解保留在产品中的氰醇而产生的氢氰酸被认为也包含在商品中。至今也从来未能预计到这样微量的氢氰酸对于减活化作用的影响。

对用于本发明的腈化合物（如丙烯腈）并不特别的限制只要通过腈水合酶作用它能转化为相应的酰胺化合物并且在也含有导致酶减活化的浓度的氢氰酸的组分中为主要成份。组分中腈化合物的含量大约为 90% 或更高。腈化合物包括脂肪饱和腈如乙腈，丙腈，丁二腈和己二腈；不饱和脂肪腈如丙烯腈和甲基丙烯腈；芳香腈如苯腈，邻苯二甲基二腈；杂环腈如烟腈 (nicotinonitrile)。其中典型的包括有 2—4 个碳原子的腈化合物如乙腈，丙腈，丙烯腈，甲基丙烯腈，N-丁腈和异丁腈。特别优选丙烯腈。

进一步降低保留在含有用于本发明的腈化合物组分中的氢氰酸可以根据化学方法得以实现。能够使用许多降低氢氰酸的方法。然而理想的方法不会增加副产物及杂质的含量，这些物质也许会引起腈化合物的变性或降低制备出的酰胺化合物的质量。作为这样的方法如在下面提到：一种将含有腈化合物的组分中的氢氰酸转化为金属配合物的方法；一种使用离子交换树脂的方法；当腈化合物为不饱和腈时，一种在碱性条件下将氢氰酸加入到腈化合物中的方法。

转化为金属配合物的方法包括将通过与氢氰酸反应能够形成金属氰配合物的

金属，如钒，铬，锰，铅，铜，银，锌，钴或镍以硝酸盐，氯化物，硫酸盐或羧酸盐的形式加入到腈化合物中，使氢氰酸转化为金属氰配合物（参照JP-A-7-228563）。此外，也可以使用金属醇盐代替金属盐（参照US5519162）。加入金属的含量优选约为0.00001—0.01%，尽管它会随着含有腈化合物组分中氢氰酸的浓度而改变。

这种情况下，如果将腈化合物转化为酰胺化合物，酶不受金属离子或金属氰配合物的影响，就不要求除去金属盐。然而考虑到要除去较大量的氢氰酸，金属氰配合物优选用吸附剂等除去。

除去金属氰配合物可以使用例如吸附剂（如活性碳，活性氧化铝，沸石或硅胶）或阴离子交换树脂。

使用离子交换树脂的方法包括将腈化合物与阴离子交换树脂接触以除去化合物中的氢氰酸。作为使用的阴离子交换树脂，优选为多孔的（微网状的）和孔状凝胶型阴离子交换树脂，例如，Amberlyst A-21（Japan Organo Co., Ltd. 生产），Diaion WA 20, 21, 30（如三菱化学公司生产等），因为它们在腈化合物中具有足够的离子交换能力。

离子交换树脂法可以在固定床，移动床或流化床中进行，也可以是间歇的或连续的。其中从成本和操作性能方面考虑优选连续固定床工艺。这种情况下，氰溶液流过离子交换树脂的速率优选为每小时不超过所装树脂体积的100倍，尽管它会随着含有腈化合物组分中氢氰酸的浓度而改变。

然而，这种使用阴离子交换树脂除酸的方法容易伴随腈化合物的变性。因此例如关于接触时间，接触方式等还需要充分的研究。

作为在碱性条件下将氢氰酸加入到不饱和腈化合物中以形成饱和二腈化合物的方法，可以使用将水溶液加入到腈化合物的方法（参照US2481580）及将腈与作为碱性催化剂的阴离子交换树脂接触的方法（JP-B-46-41290）。

用于本发明的碱的水溶液不特别限定，但必须选自不影响酰胺质量及酶活性的碱。合适的碱的水溶液是例如碱金属氢氧化物，碱土金属氢氧化物，氨或胺的水溶液，其中优选碱金属氢氧化物，碱土金属氢氧化物和氨的水溶液，特别优选氢氧化钠和氢氧化钾的水溶液。

用于本发明的碱的水溶液的浓度不特别限定，但必须选自不影响酰胺质量及酶活性的范围。优选0.00001—5 N的碱的水溶液，特别优选0.00001—0.5 N的

碱的水溶液。用于本发明的碱的水溶液的用量不特别限定，大约0.0001—10%（重量）较为合适。

除去较大量的氢氰酸是合乎需要的。通常氢氰酸的含量降低至在腈化合物中的浓度为3ppm或更小，优选为1ppm或更小，更优选为0.5ppm或更小。

5 脲水合酶是一种金属酶，其活性中心由铁，钴等构成。酶的减活化作用推测是由于活性中心的铁或钴与腈的配位作用而引起的。相应地，本发明中的脲水合酶可以从任何微生物菌种衍生而来。

能制成脲水合酶的微生物在上文中描述过。由这些微生物制成的脲水合酶均可用于本发明。其中具有较强酶活性的微生物优选为棒状杆菌属，假单孢菌属，
10 红球菌属，奴卡氏菌属和戈登氏菌，特别优选红球菌属。近来进行了许多研究，其中由这些微生物衍生出的脲水合酶经过人工改性，并且使用其它微生物制成脲水合酶，也使用了参照基因重排技术为提高脲水合酶活性而采用的微生物。

正如上文提到的每一篇出版物所描述的那样，脲水合酶与腈化合物的相互作用是通过将腈化合物，与培养得到的微生物细胞或其处理过的产物在含水介质中
15 接触而进行的。微生物细胞处理的产物为破裂的微生物细胞，微生物细胞的提取物，或者是从微生物细胞中提取出的粗的或精制的酶，这些微生物细胞和酶与聚丙烯酰胺，藻酸和角叉菜等在一起。

现结合下面实施例对本发明作更详细地描述。然而本发明并不局限于这些实施例。除非另外说明，下面实施例和对照实施例中的百分数均按重量计算。

20

实施例1和对照实施例1

(1) 微生物细胞的制备

具有脲水合酶活性的紫红红球菌种J-1 (FERM BP-1478) (JP-B-6-55148) 在培养基(pH 7.0)中进行有氧培养，其培养基中包括2%的葡萄糖，1%的尿素，0.5%的胨，0.3%的酵母提取物和0.05%的氯化钴。培养后的产物用50mM的磷酸盐的缓冲液(pH 7.0)洗涤，得到微生物细胞的悬浮液(20%，按干细胞计)。在500g的悬浮液中加入500g混合单体溶液，其中包含20%的丙烯酰胺，2%亚甲基双丙烯酰胺和2%的2-二甲氨基-丙基异丁烯酰胺，然后将得到的混合物充分地悬浮。接着又加入2g 5%过硫酸胺和2g 50%四甲基乙二胺，以引起聚合和凝胶化作用。得到的凝胶切为1mm³，再用1升0.5%的硫酸钠溶液洗涤5次。这样获得了固定的微

生物细胞的颗粒，即丙烯酰胺制备催化剂。

(2) 降低氢氰酸的处理

在 10 升工业使用的丙烯腈中加入 100 g 0.1N 的氢氧化钠，将此混合物充分搅拌和溶解，然后将所得的溶液保持 30 mins (碱处理)。此后，向其中加入 20g 浓度为 1 mol/L 的丙烯酸水溶液进行中和。经过这种处理后，丙烯腈组分中的氢氰酸的浓度降至 1.0 ppm。

(3) 酰胺形成反应

在一内体积为 5 升的可分离的烧瓶中加入 3200g 浓度为 0.2 g/L 的丙烯酸钠水溶液。然后向其中加入 3g 上述的固定的微生物细胞，并进行搅拌同时控制 pH 为 7.0，温度为 10°C。

然后向其中连续加入丙烯腈使得丙烯腈浓度恒定为 2%，并继续进行聚集反应直至丙烯酰胺浓度达至 48%。

为了比较，使用未经过碱处理的丙烯腈同样地进行聚集反应，直至丙烯酰胺浓度达至 48%。

结果是，两种情况下初反应速率相同，在使用经过碱处理的丙烯腈中，减活化作用得到抑制，并且同使用未经过碱处理的丙烯腈的情况进行比较，生产出丙烯酰胺只花费一半的时间。

结果见表 1。

表 1

反应序号	碱处理	丙烯腈中氢氰酸的浓度	反应时间
实施例 1	+	1.0 ppm	120 hrs
对照实施例 1	-	5.0 ppm	220 hrs

25 实施例 2—4 和对照实施例 2

在 200g 50% 的丙烯酰胺水溶液中加入 0.1g 实施例 1 中制备出的固定的微生物细胞，接着在 15°C 下进行搅拌。在与实施例 1 同样的用于工业使用的丙烯腈中加入表 2 中的金属盐，用于除去氢氰酸，使得其中的金属浓度为 10 ppm，然后用活性氧化铝从中除去形成的金属氰配合物。将每份丙烯腈加入到上述得到的 4g 的丙烯酰胺溶液中。开始反应 60 小时后，测定丙烯腈的浓度。

为了比较，对未加入金属盐的丙烯腈进行了同样的处理。

结果是，初反应速率相同。然而在未加入金属盐的丙烯腈中，观察到丙烯腈含量减少的速率在降低，这是由于酶的减活化作用。

结果见表 2。

5

表 2

反应序号	金属盐	丙烯腈中氢氰酸的浓度(ppm)	丙烯腈的浓度(%) (60 hrs 后)
实施例 2	氯化锌	1.0	0.03
实施例 3	氯化镍	0.7	0.02
10 实施例 4	乙酸钴	1.9	0.2
对照实施例 2	—	3.1	0.7

实施例 5—7 和对照实施例 3

(1) 降低氢氰酸的处理

15 将与实施例 1 同样的用于工业使用的丙烯腈装入三个塑料容器中，其中每个容器中含量为 5 升。然后在每个容器中加入 50ml 0.1 N 的氢氧化钠水溶液并充分混合。加入氢氧化钠 2 分钟后，再在一个容器中加入 1 mol/L 的丙烯酸水溶液，加入 10 分钟后，在另一个容器中加入 1 mol/L 的丙烯酸水溶液，加入 20 分钟后，再在另一个烧瓶中加入 1 mol/L 的丙烯酸水溶液。每次加入 5ml 1 mol/L 的丙烯 20 酸水溶液。这样，所有都得到中和。

(2) 酰胺形成反应

将上述的丙烯腈及水连续地加入到 1 升可分离的烧瓶中，其中含有 10g 实施例 1 制备出的固定的微生物细胞，同时控制 pH 为 8，温度为 20°C。为了控制丙烯酰胺的浓度为 50% 及丙烯腈的浓度为 2%，再加入上述的丙烯腈及蒸馏水。从丙烯腈的消耗速率计算出反应速率，再从反应速率的变化计算出减活化作用的速率。相当于这些值计算出丙烯酰胺的产量。

为了比较，对未经过碱处理的丙烯腈也进行同样的方法。

结果是，丙烯腈中的氢氰酸浓度越低，减活化作用的速率就越低。使用处理过的丙烯腈，每 1g 微生物细胞的丙烯酰胺的产量为未反应的丙烯腈的两倍。

30 结果见表 3。

表 3

<u>反应序号</u>	<u>碱处理(min)</u>	<u>丙烯腈中氢氰酸的浓度(ppm)</u>	<u>丙烯酰胺产量/微生物细胞(g/g)</u>
实施例 5	2	3	1200
实施例 6	10	1	1800
5 实施例 7	20	0.5	2000
对照实施例 3	—	5	1000

10 相应于本发明，能够有效地抑制腈水合酶活性的降低，因此可以从腈化合物中有效地制备出酰胺化合物。

尽管结合上述特定的实施例已对本发明作了详细地描述，对于本领域的技术人员来说，很明显可以对本发明作许多改变和修饰，而不超出其构思和范围。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.